

11232
2
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
Facultad de Medicina
División de Estudios de Postgrado
Centro Médico "La Raza"
I.M.S.S.

FALLA DE ORIGEN

HOMOTRANSPLANTES FETALES (SUBSTANCIA NIGRA Y GLANDULA
SUPRARRENAL) AL NUCLEO CAUDADO PARA EL TRATAMIENTO
DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.

Tesis de Postgrado
que para obtener el grado de:
ESPECIALISTA EN NEUROCIRUGIA
p r e s e n t a

DRA. MA. DEL CARMEN AGUILERA RIESTRA

Profesor del Curso: Dr. Ignacio Madrazo Navarro
Director de Tesis : Dr. Ignacio Madrazo Navarro



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

16 Bo J. J. J.

HOMOTRANSPLANTES FETALES
(SUBSTANCIA NIGRA Y GLANDULA SUPRARRENAL)
AL NUCLEO CAUDADO PARA EL TRATAMIENTO
DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.

INDICE

RESUMEN (ESPAÑOL)	1
RESUMEN (INGLES)	2
INTRODUCCION.	3
ANTECEDENTES CIENTIFICOS	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
HIPOTESIS	15
CONSIDERACIONES LEGALES	16
CONSIDERACIONES ETICAS	17
MATERIAL Y METODOS	18
DESCRIPCION DE LA TECNICA QUIRURGICA	26
TRATAMIENTO CON INMUNOSUPRESION	33
RESULTADOS.	37
DISCUSION	47
CONCLUSIONES.	49
BIBLIOGRAFIA	50

RESUMEN

Se describe 4 casos de trasplante al cerebro (estriado) del Área mesencefálica ventral (VM) y 3 de glándula adrenal (A) a pacientes parkinsonicos como una nueva alternativa para la mejoría de esta enfermedad. Los pacientes que recibieron VM demostraron una mejoría muy significativa de la rigidez, la bradicinecia, las alteraciones de la marcha y de la postura, así como de la expresión facial. Tres de estos cuatro pacientes han regresado a trabajar. El grupo que recibió tejido A, revelaron discreta mejoría de la rigidez y la bradicinecia, pero sin presentar cambios significativos en los demás signos de la enfermedad. Estos pacientes pueden realizar sus actividades diarias básicas, pero dos de ellos no están en condiciones de regresar a trabajar. Las diferencias observadas entre los pacientes transplantados de VM y A, pueden estar relacionadas a la heterogenicidad de la enfermedad, pero creemos que fundamentalmente son responsabilidad del tipo de injerto implantado.

Nuestros resultados con el uso de VM así como los de otros grupos en el mundo son alentadores, es importante establecer claramente, que se trata de un procedimiento aún en fase experimental, por lo que debe actuarse con cautela, limitando su realización a los centros de investigación clínica altamente calificados.

ABSTRACT

Fetal ventral mesencephalon and fetal adrenal tissue grafted to the caudate nucleus of four and three parkinsonians patients respectively, have been shown to be an alternative treatments for the amelioration of the signs of the disease. The ventral mesencephalon patients had a significant amelioration of rigidity, bradykinesia, postural imbalance, gait disturbance, and facial expression. Three of these four patients have returned to work. The fetal adrenal group only showed amelioration of rigidity and bradykinesia. Though these patients are now able to perform their basic daily living activities, and one of them has renewed her household tasks, the other two have not yet been able to return to work. The differences observed between the ventral mesencephalon to the fetal adrenal transplanted patients may be related to the heterogeneity of their disease and/or the type of graft implanted. However, encouraging our results may be, this experimental procedure obviously requires further studies, and should not be practiced outside of highly qualified clinical research centers.

INTRODUCCION

Con el advenimiento de los trasplantes cerebrales se espera reemplazar las neuronas dopaminérgicas dañadas en la Enfermedad de Parkinson (EP) con tejidos ricos en células dopaminérgicas.

La evidencia experimental con animales tanto roedores como primates no humanos con lesiones nigroestriatales inducidas por toxinas, demuestran que los implantes del area mesencefálica ventral (VM) (13-27) y glándula adrenal (A) (14,16,18,21,27) producen mejoría importante de las funciones motoras y conductuales así como cambios bioquímicos histológicos en estos modelos.

Desde el reporte de nuestros primeros casos exitosos de autotransplante de médula suprarrenal autóloga al núcleo caudado de dos pacientes con Enfermedad de Parkinson (1) hemos sumado 42 casos más tratados con autotransplante (3) el análisis estadístico de las valoraciones clínicas, neuropsicológicas y neurofisiológicas, etc. demuestra que los pacientes mayores de 45 años con Enfermedad de Parkinson poco severa al igual que los pacientes jóvenes con grado de severidad similar responden bien a la cirugía, con cambios grandes en sus calificaciones UPRS después de la intervención tanto en su estado "on" como "off" sin embargo, la mejoría en la calidad de vida depende de la severidad de su enfermedad de tal manera que los parkinsonícos con buena respuesta quirúrgica pero afectados severamente, solo hay mejoría leve en sus actividades diarias.

Otro grupo de pacientes con grado severo de la enfermedad y ancianos, no tuvieron una respuesta favorable a la cirugía. La experiencia mundial para tratamiento con autoinjertos en EP (1-12) evidenció que la operación es benéfica para parkinsonícos jóvenes y afectados moderadamente y que tenemos una población específica de pacientes con enfermedad muy severa o muy ancianos que este procedimiento les ofrece mínima ayuda y se asocia con elevada morbimortalidad.

Al realizar una sola cirugía con la idea de reducir el riesgo quirúrgico para tratar pacientes con EP severa y ancianos así como lograr una recuperación más sólida y persistente de los síntomas neurológicos en la EP de acuerdo con la literatura (13-27), se requiere utilizar tejido más joven, con mayor vitalidad e indiferenciado. Esto nos llevó a realizar los primeros trasplantes homólogos de feto y embrión humano (28) al cerebro que es el motivo de este trabajo.

Al inicio de 1987, obtuvimos la aprobación del Sector Salud y del Comité de nuestra institución (IMSS) para realizar los 2 primeros trasplantes fetales para el tratamiento de la EP. (28)

ANTECEDENTES CIENTIFICOS

El primer trasplante neural se atribuye a Gilman Thompson en 1890 de la Universidad de Nueva York, publicó sus experimentos exitosos de trasplante de corteza cerebral de gatos adultos a perros adultos. La importancia de este primer intento radicó en la demostración de la viabilidad del tejido cortical injertado; su trabajo fué muy criticado pero muy probablemente fue el primero que se preguntó si las células nerviosas podrían sobrevivir después de implantadas en un cerebro huésped.

S. Salty Kow en 1905 de la Universidad de Basel reportó la sobrevida de neuronas por 8 días en corteza cerebral de conejos jóvenes después de implantados.

Del Conte en 1907 fué el primero en implantar tejido embrionario al cerebro de mamíferos, sus resultados fueron un fracaso, no demostró sobrevida de los implantes a largo plazo.

Así hubo otros resultados de fracaso al trasplante del Sistema Nervioso publicados por Altobelli en 1914, Willis 1935, Glees 1955, sin dejar por esto de realizarlos. Así Elizabeth Dunn, en 1917 publicó sus resultados al injertar corteza cerebral de embriones de ratas en el sistema ventricular de ratas huéspedes seleccionadas. Ella notó que los implantes sobrevivían si se encontraban yuxtapuestos a los plexos coroides de los ventrículos laterales así como la permanencia organotípica de la corteza implantada junto con la sobrevida y la necesidad de vascularización del injerto; permanece como uno de los trabajos clásicos.

En 1909 y 1914 S. Walter Ranson reportó un injerto de ganglio espinal de ratas neonatales a la corteza cerebral de ratas adultas teniendo éxito.

En 1940 Le Gros Clark en Oxford confirmó la importancia de que el tejido fuera inmaduro y que tuviera un adecuado abastecimiento de nutrientes para que las neuronas pudieran sobrevivir, de esta manera logro transferir con éxito segmentos de corteza de embriones de conejo a los ventriculos laterales de conejos de 6 semanas de edad. A pesar de que las neuronas eran inmaduras cuando se injertaron, encontró que 4 semanas después muchas de ellas habian completado su desarrollo. Después de ella el escepticismo de muchos investigadores detuvo por muchos años el progreso de los estudios de regeneración del Sistema Nervioso Central.

Posteriormente R.M. May en 1945 descubre que los injertos son capaces de restablecer la inervación o circuitos y el tejido implantado puede inducir crecimiento. Este conocimiento lleva a la investigación y conocimiento de la existencia de factores tróficos de promoción, y mantenimiento de la investigación injerto-huésped. La época moderna de los trasplantes del Sistema Nervioso Central se inició en 1971 con Bopál, Das y Altman de la Universidad de Purdue, quienes demostraron sin lugar a dudas que las neuronas inmaduras transplantadas pueden sobrevivir y madurar: inyectaron timidina marcada radioactiva en uno de los compuestos de DNA en ratas de 7 días de edad en las que se incorporó el compuesto al material genético de las células de recién nacidas, incluyendo las neuronas. Posteriormente transplantaron fragmentos de cerebelo de

los animales a los que se habían inyectado en el sitio equivalente y repitieron la maniobra en un grupo control. Dos semanas más tarde extrajeron cortes del cerebelo huésped y mediante técnica de autoradiografía, demostraron que las neuronas transplantadas habían sobrevivido. En experimentos posteriores estos autores definieron el principio generado de que el tejido cerebral embrionario que se transplanta durante el periodo en que las neuronas se multiplican y migran antes de extender sus axones y dendritas, tienen la mayor posibilidad de supervivencia. Las diferentes partes del cerebro, se desarrollan en diversas épocas, por lo que la edad óptima del donador variará de acuerdo con el tipo de injerto que se pretenda realizar.

La edad del animal huésped tiene menos relación sobre la supervivencia del tejido transplantado que otros factores, tales como la estabilidad física del implante y el suministro sanguíneo de que dispone el injerto.

Se ha visto que un factor que en otros órganos es trascendente en la supervivencia de los transplantes, no lo es de igual magnitud en el sistema nervioso: la relación de compatibilidad que existe entre el donador y el animal huésped. En el Sistema Nervioso Central se ha visto que es factible que no se produzca rechazo inmunológico de un injerto, aún cuando el donador y el animal huésped sean diferentes genéticamente. Es incluso posible que en el Sistema Nervioso Central puedan tener éxito incluso los xenoinjertos, requiriendo solo cierta protección inmunosupresora con ciclosporina. Esta observación significa que el cerebro es un

sitio "privilegiado" inmunológicamente: la piel transplantada y los tejidos tumorales pueden sobrevivir en el cerebro de un animal aún cuando haya rechazado de inmediato injertos similares en piel. Una explicación posible para esto es que el cerebro carece de vasos y nódulos linfáticos y sus paredes de arterias, venas y capilares tienen una barrera que impide el acceso de tejidos extraños, por lo que el sistema inmunológico sistémico se ve limitado.

En el caso de los trasplantes de neuronas la ausencia de rechazo también puede reflejar adecuadamente cuales son las características privativas de las células nerviosas. La mayoría de estas tiene sobre su superficie antígenos histocompatibles clase I; los antígenos son diferentes en cada animal, moléculas que el sistema inmunológico reconoce como extrañas cuando rechaza al tejido injertado. Ahora se sabe que dichos antígenos no se encuentran en las neuronas. La supervivencia rutinaria de los tejidos nerviosos transplantados abre las puertas para estudiar cual es su interacción con el huésped, una forma de saberlo consiste en identificar los factores que gobiernan la respuesta del Sistema Nervioso Central ante la lesión. Los trasplantes pueden servir para modificar las condiciones en un cerebro o médula espinal lesionada; haciendo posible determinar las relaciones que gobiernan la capacidad regenerativa de las neuronas centrales.

En consecuencia, los experimentos con trasplantes pueden verter luz sobre la diferente capacidad de regeneración de los Sistemas

Nerviosos Central y Periférico. Una diferencia similar en la capacidad de regenerarse y volver a conectarse se observa en el cerebro embrionario, que sufre cambios notables a medida que se desarrolla, y que si lo hace en un sujeto huésped lesionado puede recuperarse una lesión en el cerebro adulto.

Al transplantar secciones de cerebro de embrión de rata a los cerebros adultos lesionados, Bjorklund y Stenevi de la Universidad de Lund y Kromer de la Universidad de California, identificaron uno de los fundamentos posibles para explicar la diferencia.

Cuando los investigadores transplantaron una parte del hipocampo de una rata de embrión a un hueco en la fimbria, las fibras colinérgicas crecieron a lo largo del injerto y dentro del hipocampo del huésped. Seis meses después la transferencia de acetilcolina del hipocampo contiguo al injerto recuperó el 50% de su nivel normal. Experimentos similares realizados con otras porciones de cerebro de embrión han revelado que el tejido embrionario puede actuar como puente para que crezcan los axones del Sistema Nervioso Central, siempre y cuando un tejido injertado sea el blanco de los axones. Los resultados sugieren que las estructuras del cerebro embrionario pueden producir factores neurotróficos específicos que guían a las fibras que están creciendo hacia sus blancos y objetivos.

El tejido embrionario injertado puede lograr de alguna forma que el cerebro huésped produzca dichos factores. Las observaciones realizadas por Ellen R. Lewis y Carl W. Cotman en 1982 revelaron que el cerebro adulto puede secretar factores neurotróficos en

ciertas condiciones. Nieto-Sampedro, demostró la presencia de dicho factor al recolectar fluido de las cavidades ventriculares, posterior al implante de tejido embrionario agregándolo a neuronas de cultivo prolongado; así la supervivencia de las mismas. Las neuronas de embrión injertadas pueden prolongar sus fibras dentro del cerebro huésped, este crecimiento no es indiscriminado. La relación anatómica normal del tejido huésped y del injerto, así como la inervación que existe, con las estructuras del huésped influyen sobre el patrón y grado de crecimiento de las fibras.

Es más factible que las fibras que se prolongan del tejido injertado crezcan dentro de estructuras a las que normalmente inerva este tejido. Bjorklund, Stenevi y cols., transplantaron neuronas de embrión a corteza y neuroestriado de ratas adultas, estas se extrajeron de la sustancia nigra. Las células sobrevivieron en ambos sitios, pero emitieron cantidades significativas de fibras solo al neostriado, que normalmente es su principal objetivo.

Los estudios realizados acerca del crecimiento de fibras, confirma que el tejido embrionario injertado puede incorporarse anatómicamente dentro del Sistema Nervioso Central del huésped. Distintas características del Sistema Nervioso Central, pueden favorecer la recuperación valiéndose de injertos. Por un lado recuperar la función del Sistema Nervioso Central puede no requerir que precisamente se reconstruyan los elementos dañados y tan sólo ser necesario, subsistir algunos de los tejidos correspondientes. Los factores neuroquímicos, así como los

neuroanatómicos ofrecen alentadoras promesas para recuperar funciones a través de injertos. La química del cerebro se modifica una vez que éste ha sufrido un daño. Estos efectos se han estudiado detalladamente en la Enfermedad de Parkinson.

La hipersensibilidad de desnervación representa parcialmente la sorprendente capacidad que tienen los trasplantes de neuronas para contrarrestar las anomalías de comportamiento en animales que se han utilizado como representativos de padecimientos neurológicos degenerativos. El modelo de 6-hidroxi dopamina en ratas del mal de Parkinson, proporcionó el ejemplo primario utilizado por Perlow, Freed y Wyatt al trabajar con Olson, Seiger, Hoffer, transplantaron fragmentos de sustancia nigra y médula suprarrenal de embrión de 8 a 13 semanas, después de realizado el trasplante, disminuyó la sintomatología neurológica, así como al inyectar apomorfina se confirmó que las neuronas transplantadas, estaban liberando dopamina. (Tabla 1)

Los modelos experimentales del mal de Parkinson nos ofrecen otro ejemplo sorprendente de recuperación funcional en humanos; ha sido demostrada por nosotros en 1987. (28)

HISTORIA DE LOS TRANSPLANTES NEURALES AL SISTEMA NERVIOSO.

- | | |
|---|--|
| 1890-W.G. THOMPSON (New York,U.S.A) | First attempt to graft adult CNS tissue to brain. |
| 1898-J. FORSSMAN (Lund,Sweden) | First report of neurotropic effects of grafted CNS tissue. |
| 1907-G. DEL CONTE (Naples, Italy) | First attempt to graft embryonic tissues to brain. |
| 1909-W. RANSON (Chicago,U.S.A.) | First successful grafting of spinal ganglia to brain. |
| 1911-F. TELLO (Madrid, Spain) | First successful grafting of peripheral nerve to brain |
| 1917-E. DUNN(Chicago,U.S.A.) | First successful grafting of neonatal CNS tissue to neonatal brain. |
| 1921-Y. SHIRAI (Tokio, Japan) | First demonstration of brain as an immunologically privileged site. |
| 1924-G. FALDINO (Pisa, Italy) | First successful grafting of fetal CNS tissue to anterior eye chamber. |
| 1940-W.E. LE GROS CLARK (Oxford,U.K.) | First successful grafting of fetal CNS tissue to neonatal brain |
| 1957-B. FLERKO and J. SZENTAGOTHAJ (Pecs,Hungary) | First successful intraventricular grafting of endocrine tissue. |
| 1970-1972 | First reports of reliable grafting to brain and anterior eye chamber. |

Publicado por Elsevier Science (1985)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La epidemiología de la Enfermedad de Parkinson señala que la mayor frecuencia de la enfermedad se da después de los 60 años por lo que los enfermos que requerirán cirugía son particularmente mayores, ya que habitualmente han sido sometidos a tratamientos médicos, por lapsos de varios años. De nuestros 42 pacientes operados a la fecha, han muerto por causas inherentes a la cirugía 4 de ellos correspondiendo todos a los grupos de mayor edad (cercaos a los 60 años), además la evolución postoperatoria de los sobrevivientes en este rango de edad es notablemente mas compleja y difícil que la de los individuos menores de 50 años.

Particularmente la adrenalectomia ha sido responsable de los 4 fallecimientos. Dado que como señalamos en los antecedentes científicos los grupos de Suecia, Estados Unidos, Israel y México han demostrado plenamente que los mejores resultados en trasplantes de células neurales o no neurales al Sistema Nervioso Central se obtienen utilizando tejido embrionario en momentos específicos del desarrollo gestacional ya que de esta manera se logra, que la célula no diferenciada desarrolle su potencial de diferenciación obedeciendo a su Código Genético, produciendo el desarrollo embrionario en el huésped, además de que la vitalidad celular será obviamente óptima.

Con este cuerpo de información que sostiene como ideal al tejido embrionario para ser transplantado al Sistema Nervioso Central del adulto, establecemos tres premisas básicas que fundamentan este

estudio.

- a) La Enfermedad de Parkinson, es más frecuente en individuos mayores de 60 años. La mortalidad del autoinjerto de médula suprarrenal al núcleo caudado en individuos mayores de 60 años es alta.
- b) El tejido donante ideal es el de sujetos en estado embrionario.
- c) Aún no existe información suficiente para suponer, que en este momento sea factible el empleo de xenoinjertos.

HIPOTESIS

- 1) El homoinjerto embrionario de tejido ventral mesencefálico al núcleo caudado es aceptado, anidado, funcionalmente activo y de sobrevida a largo plazo al ser implantado en pacientes con Enfermedad de Parkinson.

- 2) El homoinjerto embrionario de glándula suprarrenal al núcleo caudado es aceptado, anidado, funcionalmente activo y de sobrevida a largo plazo al ser implantado en pacientes con Enfermedad de Parkinson.

HIPOTESIS ALTERNA

La realización de un homoinjerto (en vez de un autoinjerto) reduce el riesgo quirúrgico de los pacientes sometidos a trasplante cerebral para tratamiento de la Enfermedad de Parkinson, al ser una cirugía mayor en lugar de dos cirugías mayores.

CONSIDERACIONES LEGALES

De acuerdo a la Ley General de Salud (Editorial Porrúa 1987), de los Estados Unidos Mexicanos, se establece claramente la factibilidad de realizar transplantes homólogos de cadáver humano embrionario y fetal, de acuerdo a las siguientes disposiciones:

Titulo decimocuarto: del Control Sanitario de las Disposiciones de Organos:

Tejidos y Cadáveres de Seres Humanos.

Articulos: 313,314,317,318, 319.

Capitulo II: Articulo 324.

Titulo segundo:

de los Aspectos Eticos de la Investigación en Seres Humanos.

Capitulo: I, II, III.

IV. Articulos. 43, 40 apoyados en los Articulos 21,22,48,55.

VI: Articulo: 59

Titulo tercero:

Articulos: 62 del capitulo I.

Capitulo III: de la Disposición de Organos, Tejidos y Productos.

Sección primera: Articulos: 17,19.

Sección segunda: Articulos: 21,22,28.

CONSIDERACIONES ETICAS

Según consta en el acta de la reunión del 27 de julio de 1987, del Comité de Etica e Investigación del Hospital de Especialidades del Centro Médico La Raza, este protocolo ha sido revisado y discutido en todas sus partes, y teniendo en cuenta que forma parte de una línea de investigación del propio hospital, se dió el consentimiento para llevarlo a cabo, al considerar que llena los requisitos internacionales para la realización de un nuevo procedimiento quirúrgico y de un procedimiento de transplante de tejidos, siempre y cuando:

- a) Se obtenga la autorización escrita e informada del paciente y sus familiares legalmente responsables, para su realización.
- b) Se confirme objetivamente de acuerdo con las disposiciones de la Ley General de Salud, la pérdida de la vida del donador.
- c) Sea descartada la posible transmisibilidad de enfermedades infectocontagiosas que pusieran en riesgo la vida del receptor.
- d) Sea firmada autorización escrita e informada del paciente y sus familiares legalmente responsables para recibir medicamentos inmunosupresores (ciclosporina A y otros).

MATERIAL Y METODOS

Selección de pacientes: en la clínica de Parkinson del Centro Médico La Raza del Instituto Mexicano del Seguro Social, se seleccionaron 7 pacientes (seis hombres y una mujer), con Enfermedad de Parkinson Idiopática, cuyas edades variaron entre 35 a 66 años, con una enfermedad cuya duración fue de 5 a 16 años, y que recibían una dosis media de Levodopa de 946.4 mg/día. La respuesta inicial a la medicación en todos ellos había sido adecuada, pero con el paso de los años presentaron una disminución gradual de los efectos benéficos del medicamento, todos los pacientes tenían complicaciones relacionadas con la droga. (Tabla 2).

Se seleccionaron siete pacientes con Enfermedad de Parkinson Idiopática como controles (dos mujeres y cinco hombres) cuyas edades variaron entre los 40 a 67 años, con una enfermedad de duración de 5 a 20 años y que recibían una dosis media de Levodopa de 982.1 mg/día. La respuesta inicial a la droga fue adecuada y con el paso del tiempo fue disminuyendo su efectividad, pero sin alcanzar a tener complicaciones ni efectos colaterales por la misma (Tabla 3).

**EVALUACIONES CLINICAS PREOPERATORIAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD
DE PARKINSON PARA TRANSPLANTE HOMOLOGO.**

Caso		1	2	3	4	5	6	7
Edad		35	50	45	54	52	47	56
Sexo		F	M	M	M	M	M	M
Evolución de E. P.		5	9	16	8	13	9	12
Dosis de L-Dopa mg/día		750	1000	2000	1000	375	1000	750
UPRS	on/off	71/88	59/79	110/129	99/148	100/136	31/108	50/92
Schwab & England	on/off	60%/50%	60%/50%	40%/30%	50%/20%	50%/40%	90%/60%	70%/50%
Hoehn & Yahr	on/off	3/3	3/4	4/4	3/5	3/3	1/3	2/3
Madrazo	on/off	4/3	3/2	2/2	3/1	3/2	5/3	4/3

**EVALUACIONES CLINICAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD
DE PARKINSON NO OPERADOS.**

Caso		1	2	3	4	5	6	7
Edad		67	60	56	61	40	52	58
Sexo		M	F	F	M	M	M	M
Evolución de la E.P.		10	20	16	9	5	8	16
Dosis de L-Dopa mg/día		750	125	750	375	250	1000	750
UPRS	on/off	32/76	53/116	56/72	67/85	61/101	83/135	81/107
Schwab & England	on/off	80%/50%	60%/40%	60%/50%	80%/70%	60%/40%	50%/20%	60%/30%
Hoehn & Yahr	on/off	3/4	4/4	3/3	3/3	3/4	4/5	3/4
Madrazo	on/off	3/3	3/3	3/3	4/4	2/3	2/1	3/2

• TIEMPO DE SEGUIMIENTO 12 MESES

CRITERIOS DE EXCLUSION:

1. Cirugía neurológica previa (Talamotomía, Piramidatotomía, etc.)
2. Enfermedades sistémicas concomitantes de grado moderado a severo: diabetes mellitus, nefropatías, enfermedades pulmonares crónicas, hipertensión arterial, etc.
3. No historial clínico de enfermedades inflamatorias tóxicas, metabólicas u otras degenerativas diferentes a Enfermedad de Parkinson, trauma, drogas (Wilson, Hallervorden, Spatz, etc.)
4. No injerto autólogo de médula suprarrenal, excepto si los puntos anteriores son negativos se evaluará para trasplante homólogo.

CRITERIOS DE INCLUSION:

1. Al menos 3-4 signos mayores de la Enfermedad de Parkinson.
2. UPRS (EUCP=Escala Unificada para Calificar Parkinson). menor de 120 puntos.
3. Respuesta de 50% de Levodopa Carbidopa por 3 hrs. mínimo.
4. Una restricción respiratoria debido a rigidez durante el "off" de menos de 40%.
5. Edad menor de 65 años.
6. No altas psiquiátricas.

En casos de pacientes parkinsonicos menores de 35 años se deberán descartar causas secundarias del mismo (Wilson, Hallenvorden, Spatz, Hipoparatiroidismo, vasculitis, sífilis, etc.) por lo que se realizará complementariamente:

- a) VDRL en LCR y suero, HIV en LCR y suero.
- b) Perfil inmunológico completo (C3, C4, CH50, Anticuerpos, Anti DNA, antinúcleo, etc).
- c) Ca y P sérico y urinario.
- d) Paratohormona
- e) Detección de anillos de Kayser Fleischer.
- f) Valoración neurooftalmología.
- g) Ceruloplasmina sérica y venosa.
- h) Cobre sérico y urinario.
- i) Biopsia hepática en caso necesario.
- j) Manganeso
- k) T3,T4,TRH.
- l) Vitamina B12
- m) Metales pesados (plomo, mercurio, etc.) en suero y orina.

Estudios de laboratorio y gabinete que deben de ser solicitados a los pacientes con Enfermedad de Parkinson que ingresan al Protocolo de Injerto Homólogo.

1) LABORATORIO COMPLETO:

BH completa, grupo y rh, TP, TTP, Plaquetas.

Glicemia, urea, creatinina, ac. Úrico, osmolaridad sérica.

PFH: Proteínas totales, albúmina, globulina, relación A/G, amilasa, lipasa, CPK, DHL, bilirrubinas totales, ésteres de colesterol, triglicéridos, TGO, TGP, GGT.

Electrolitos séricos, calcio y fósforo.

Electroforesis de proteínas.

EGO, osmolaridad urinaria.

Depuración de creatinina y amilasa en orina de 24 hrs.

Electrolitos urinarios en orina de 24 hrs.

Catecolaminas y metabolitos en orina.

Cultivos: exudado faríngeo, urocultivo.

2) FUNCION LUMBAR (con y sin medicación antiparkinsoniana) (se suspende medicamento 48 hrs. previas).

Citoquímico LCR.

Cultivo LCR.

Electroforesis de proteínas en LCR.

Neurotransmisores en LCR.

3) RADIOIMAGEN

Rx AP y lateral de cráneo simples.

Teleradiografía de tórax.

Tomografía computada simple y con medio de contraste de cráneo.

Tomografía computada simple y con medio de contraste de glándulas suprarrenales.

Resonancia Nuclear Magnética de cráneo.

Espectroscopia de núcleos caudados.

4) Electrocardiograma

5) Valoraciones por los siguientes Servicios:

Cardiología

Psiquiatría

Endocrinología

Medicina Interna

Anestesiología

Neumología

6) Neurofisiología:

Electroencefalograma

Electromiografía

Potenciales Evocados Somatosensoriales

Espectrofotometría

7) Evaluaciones neuropsiquiátricas

8) Filmación con video profesional (con medicamento y sin medicamento)

9) Valoración por Neurología con las escalas internacionales para la Enfermedad de Parkinson. (con y sin medicamento):

UPRS: Unified Parkinson's Rating Scale = EUCP: Escala Unificada para Calificar Parkinson. (30)

HOEHN y YAHR. (30)

SCHWAB and ENGLAND (30)

ESCALA FUNCIONAL DE MADRAZO (1)

10) Papelería administrativa:

Historia clínica completa

Hojas de receptor firmadas

Hojas de laboratorio

Hojas de autopsia

DESCRIPCION DE LA TECNICA QUIRURGICA UTILIZADA

La técnica neuroquirúrgica empleada, fue la descrita previamente para los trasplantes autoadrenales (29). El tejido del donador, fue obtenido de la siguiente manera:

- 1) El feto fue colocado en hielo, transportado de inmediato al Departamento de Neurocirugía y sometido a antisepsia.
- 2) Se disecaron tanto el tallo cerebral como ambas glándulas adrenales.
- 3) El tejido ventral mesencefálico fue resecado en dos bloques, que incluyan la sustancia nigra. Las glándulas adrenales se fragmentaron en múltiples bloques (2x2x2mm). Todo el procedimiento fue realizado dentro de las primeras 4 hrs. posteriores al diagnóstico de muerte fetal. Las edades gestacionales de los 4 fetos fueron de 13, 12, 12 y 14 semanas respectivamente. Con una excepción (caso 3), los pacientes fueron operados en pares, recibiendo del mismo donador, uno el tejido ventral mesencefálico (VM) y el otro el tejido adrenal (A). (Figuras 1 a 5).

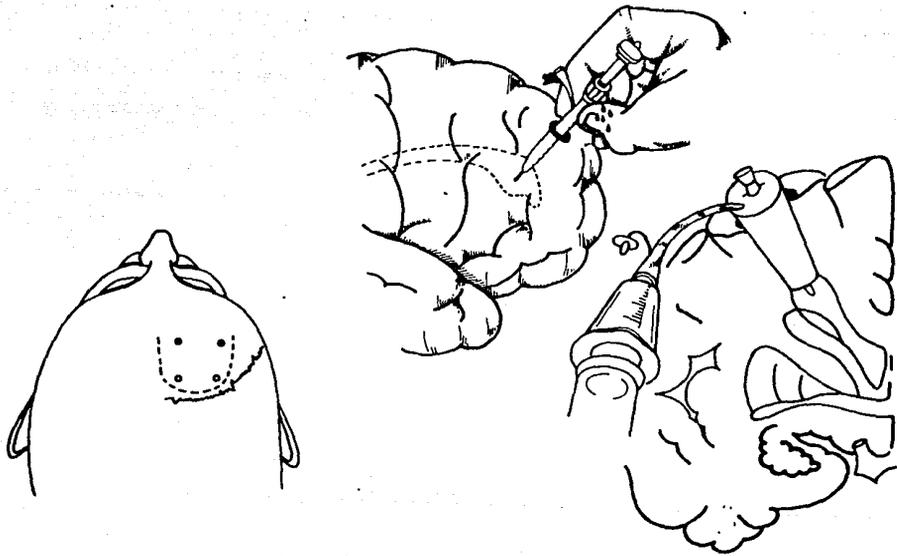
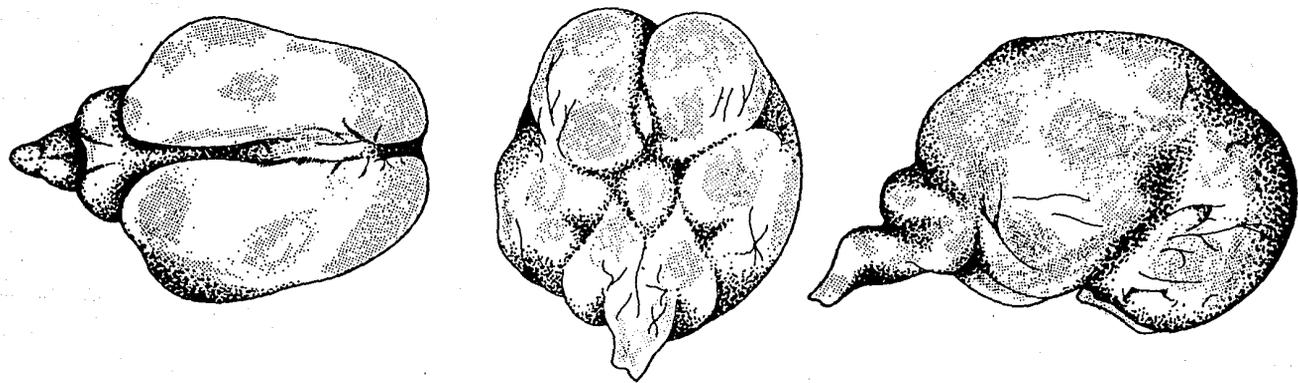


FIGURA 1



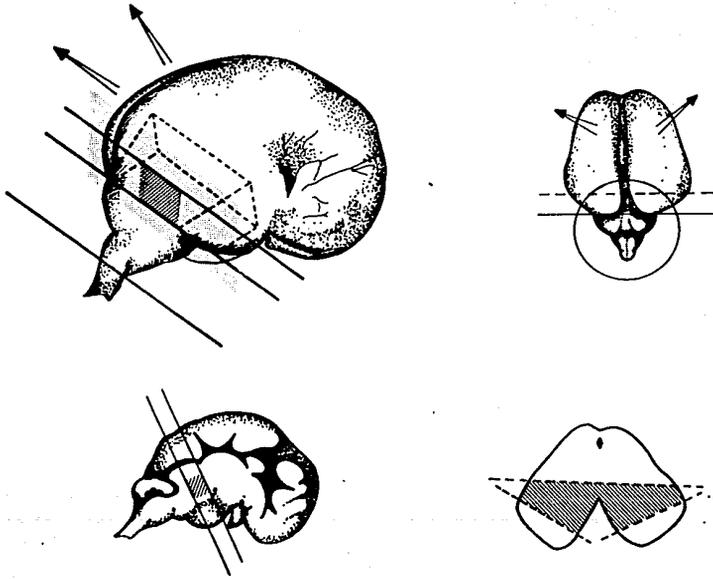


FIGURA 3

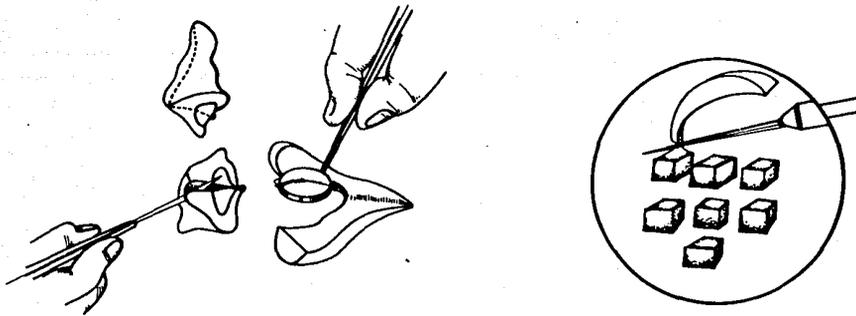
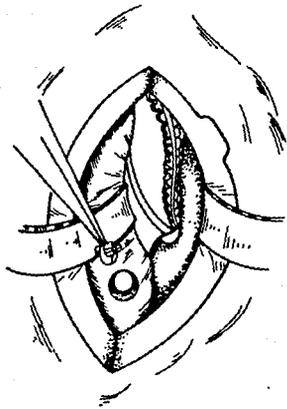


FIGURA 4



LEYENDAS DE LAS FIGURAS

FIGURA 1: Muestra el abordaje quirúrgico; craneotomía frontal a la derecha, corticotomía en F2 y el uso del balón inflable hasta llegar a la cavidad ventricular.

FIGURA 2: Muestra el cerebro de un embrión de 13 semanas, en su vista lateral basal y superior.

FIGURA 3: Los cuatro esquemas muestran el sitio de corte de la región ventral mesencefálica.

FIGURA 4: La disección y la vista microscópica de la glándula adrenal embrionaria.

FIGURA 5: La vista a través del microscopio del núcleo caudado derecho y la colocación del injerto.

TRATAMIENTO CON INMUNOSUPRESION

Inmediatamente antes de la cirugía, los pacientes recibieron como terapia inmunosupresora, una dosis única endovenosa de Ciclosporina A 10mg/kg. En el postoperatorio, la inmunosupresión se mantuvo con Ciclosporina A con dosis de 10mg/kg/día VO, el cual se mantuvo permanentemente. Se monotorizaron periódicamente los niveles séricos de Ciclosporina A. En los primeros dos casos, después de un año, se disminuyó la dosis a 1mg/kg/día sin haber aparecido signos de rechazo inmunológico. Los pacientes también recibieron Prednisona a dosis de 50 mg/día VO por 8 días seguidos de un programa de descenso de seis meses, hasta llegar a 5mg/día, que se mantuvo durante 12 meses y posteriormente se suspendió. (Tabla 4).

ESQUEMA DE INMUNOSUPRESION

Preoperatorio

Ciclosporina 10 mg/kg/dosis diluir en solución fisiológica 100 cc pasar goteo rápido.

Postoperatorio Ciclosporina

1ª semana :
10 mg/kg/día 1ª V. igual diluir como en el preoperatorio y al tolerar la vía oral se cambia a ella.

2ª semana :
7 mg/kg/día vía oral por la mañana previo desayuno.

3ª semana :
5 mg/kg/día vía oral por la mañana previo desayuno (se mantendrá esta dosis en forma permanente y se continúa en Consulta Externa igual).

* En caso de haber alteración en las pruebas de función hepática y calcio, la dosis se disminuye más rápido hasta dejar a 2mg/kg/día.

Postoperatorio Prednisona

1ª semana :
50mg. diario, se inicia tolerancia oral a las 12-24 hrs. de postoperatorio.

2ª y 3ª semana :
25mg. diario oral

4ª y 5ª semana :
15mg. diario oral

6ª, 7ª y 8ª semana
10mg. diario oral

Dosis de mantenimiento :
5mg. diario oral en forma permanente

Estudios, exámenes postoperatorios y evaluaciones clínicas en pacientes con injerto homólogo embrionario.

- 1) Laboratorio completo (igual al preoperatorio) hasta completar el primer mes c/semana, segundo mes c/semana, tercer mes c/15 días, cuarto mes el laboratorio es mensual. Se solicita con mismas fechas determinación de niveles de Ciclosporina A en sangre.
- 2) Valoración en escalas de enfermos de Parkinson c/semana, se especifica si toman medicamentos, se anotan dosis y horario tanto en "on" como en "off".

UPRS

HOEHN y YAHR

SCHWAB

MADRAZO

Lab. escalas especiales

- 3) Filmación semanal con video profesional.
- 4) Función lumbar.
- 5) Aislamiento estricto una semana.
- 6) Tiempo de internamiento en el postoperatorio (variable 2 a 3 semanas).
- 7) Rx de cráneo solicitar al postoperatorio inmediato.
- 8) Estudio Tomografía Computada de cráneo simple y con medio de contraste.

- 9) Resonancia Nuclear Magnética de cráneo.
- 10) Espectroscopia de núcleos caudados.
- 11) Estudios neurofisiológicos y neuropsicológicos mensuales.
- 12) Dado de alta el paciente se cita c/mes a Consulta Externa.

Tomar dirección y teléfono.

Hacer coincidir la cita con las de todos los demás postoperatorio Parkinson fetal ya que se evaluarán completamente todos.

Antes de dar de alta: solicitar interconsulta a Psiquiatría y Rx así como laboratorio.

- 13) Uso de Ciclosporina A y Prednisona (ver esquema descrito).
- 14) En postoperatorio no se indica DFH a nadie y sólo primer día dexametasona. (se evalúa cada mes).
- 15) Las grapas se retiran al cumplir 2 semanas.
- 16) Dicloxacilina y Gentamicina sólo 7 días y se continúa con
- 17) Trimetoprim sulfametoxazol 2 x 2 se deja por 30 días.

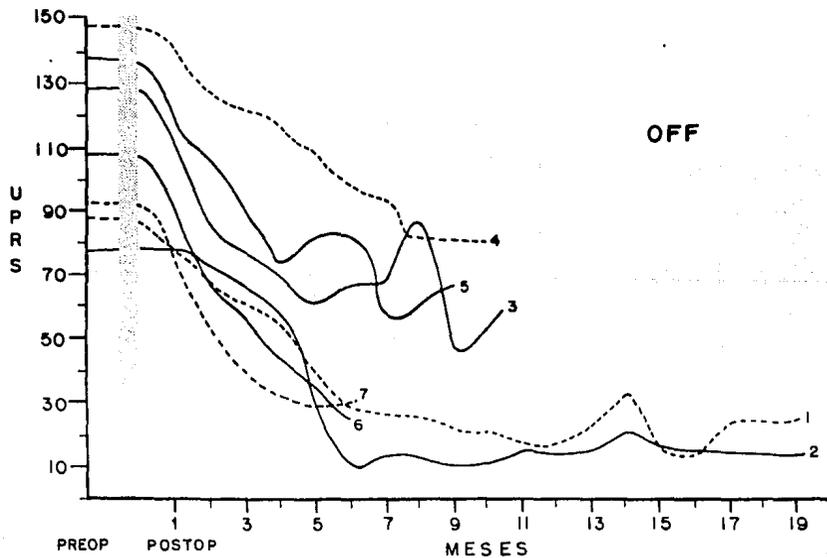
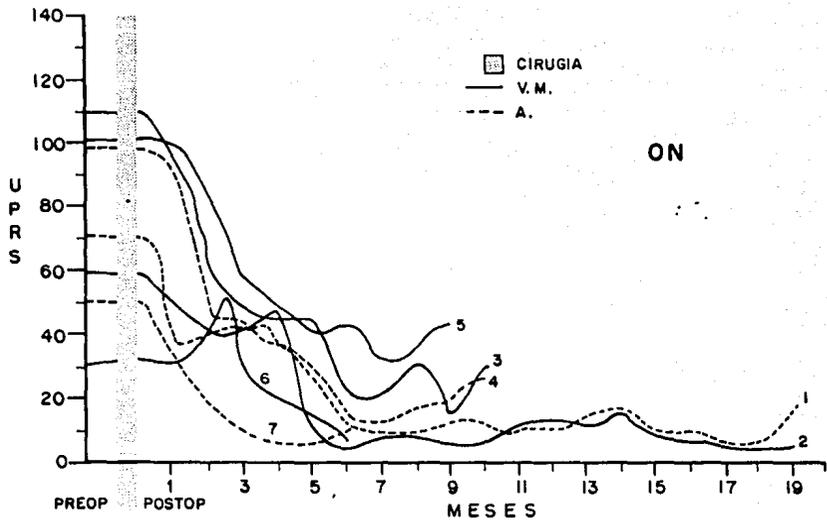
RESULTADOS

CURSO POSTOPERATORIO:

No hubo incidentes quirúrgicos. El curso postoperatorio de los pacientes fue totalmente benigno. Los pacientes cursaron su postoperatorio inmediato concientes, sin alucinaciones, sin cambios "agudos" de los signos parkinsonianos y sin modificaciones en el umbral del dolor. Con respecto a la morbilidad postoperatoria, de los pacientes que recibieron tejido ventral mesencefálico (VM), el caso 3 desarrolló una infección del colgajo óseo cutáneo con absceso cerebral frontal anterior secundario. Fue tratado exitosamente con ceftazidina (6 gr/día por dos meses). Esta complicación se relacionó a la terapia inmunosupresora. El caso 5 desarrolló una tromboflebitis profunda del miembro pélvico derecho, que requirió xilocaína epidural durante 12 días y terapia anticoagulante, que no dejó secuelas. En ninguno de los casos de adrenal (A) hubo morbilidad.

No hubo mortalidad en ninguno de los dos grupos.

Evaluaciones neurológicas pre y postoperatorias: La figura 6 muestra el tiempo de evolución de los 4 pacientes que recibieron VM y de los 3 de A en sus condiciones "on" y "off", utilizando la escala UPRS. Las curvas de evolución de los pacientes transplantados con VM y que estaban afectados moderada y severamente en su condición de "on" revelaron una mejoría de sus signos parkinsonianos entre 4 y 8 semanas después de la cirugía.



Este nivel de mejoría se mantuvo en meseta por 3 a 4 meses, después de los cuales hubo una disminución aún mayor de los signos de enfermedad, que continuó por 2 a 3 meses, hasta alcanzar una nueva meseta en un nivel significativamente mejor. Las curvas de evolución durante el estado de "off" de los pacientes, revelaron también una disminución en la severidad de los síntomas. Los enfermos demostraron una considerable reducción en la cantidad de tiempo del día en que se presentaba el estado "off", que ha seguido disminuyendo con el paso del tiempo.

La curva del tiempo de evolución en "on" y "off" de los 3 pacientes transplantados con A, son similares en su forma a aquellos de los pacientes con implantes de VM revelando que los pacientes más afectados (caso 4) alcanzaron un bajo nivel de mejoría clínica si los comparamos con los pacientes leves (casos 1 y 7).

La tabla 5 resume las calificaciones en la escala UPRS en el pre y postoperatorio (de 6 a 12 meses) de los 7 pacientes transplantados. Los 4 pacientes con homoinjertos de VM revelaron un beneficio importante con la cirugía, aunque es evidente que los dos pacientes (casos 2 y 6) en los que la enfermedad estaba menos avanzada revelaron una mejoría mucho mayor que los dos pacientes (casos 3 y 5) que sufrían una enfermedad más severa. Los resultados clínicos de los tres pacientes homotransplantados de A fetal, también revelaron que la mejor respuesta se observó en el paciente (caso 7) que sufría de un estadio leve de la enfermedad.

RESPUESTA DE LOS PARKINSONICOS AL HOMOTRANSPLANTE FETAL

Número	A. Condición Preoperatoria				B. Condición Postoperatoria			
	Caso	Sexo	Severidad de la EP (UPRS)		Caso	Meses Postcirugía	Severidad de la EP (UPRS)	
			"on"	"off"			"on"	"off"
2	VM-1	M	59	79	VM-1	19	6	15
3	VM-2	M	110	129	VM-2	10	29	59
5	VM-3	M	100	136	VM-3	9	43	67
6	VM-4	M	31	108	VM-4	6	5	24
1	A-1	F	71	88	A-1	19	22	26
4	A-2	M	99	148	A-2	10	25	81
7	A-3	M	50	92	A-3	6	11	31

En todos los pacientes, igual que en los casos de trasplante adrenal (1,2), la mejoría fue siempre bilateral y simétrica, no obstante que el trasplante haya sido colocado siempre en el núcleo caudado derecho.

Tanto en el testimonio de los pacientes como los resultados de la calificación motora en la UPRS, demostraron que los pacientes injertados con VM tuvieron una mejoría muy significativa en la rigidez, la bradicinecia, y en las alteraciones de la marcha y la postura, así como de la expresión facial. El temblor fue severamente un signo residual, que requirió tratamiento con L dopa. La mejoría no fue tan obvia para el grupo que recibió A, pues demostró únicamente mejoría de la rigidez y de la bradicinecia, pero sin cambios significativos para los otros signos. Tres de los 4 pacientes con VM han regresado a trabajar mientras que de los 3 pacientes de A, que aunque son capaces de realizar sus actividades básicas de la vida diaria, 2 de ellos no han regresado a trabajar. (Tabla 6 y 7).

La figura 7 muestra los requerimientos habituales de L-dopa para los pacientes de VM y de A, en comparación con sus dosis preoperatorias. (Aparentemente la sensibilidad de los pacientes a la droga se incrementó después de la cirugía. En todos los casos se logró una reducción gradual en su dosis de medicamento, inmediatamente después de la cirugía, y que fue disminuyendo aún más con el paso del tiempo. Esta disminución en los requerimientos de medicamento fue mayor en los pacientes que recibieron VM.

HOMOTRANSPLANTES FETALES

Estado Postoperatorio

Caso	Recuperación funcional Escala de Madrazo (Pre/Post)	
	"on"	"off"
VM-1	3/5	2/4
VM-2	2/4	2/3
VM-3	3/4	2/3
VM-4	5/5	3/4
A-1	4/5	3/4
A-2	3/4	1/1
A-3	4/5	3/4

HOMOTRANSPLANTES FETALES

Estado Postoperatorio

Caso	Respuesta global a la cirugía
VM-1	muy buena
VM-2	buena
VM-3	moderada
VM-4	buena
A-1	buena
A-2	moderada
A-3	buena

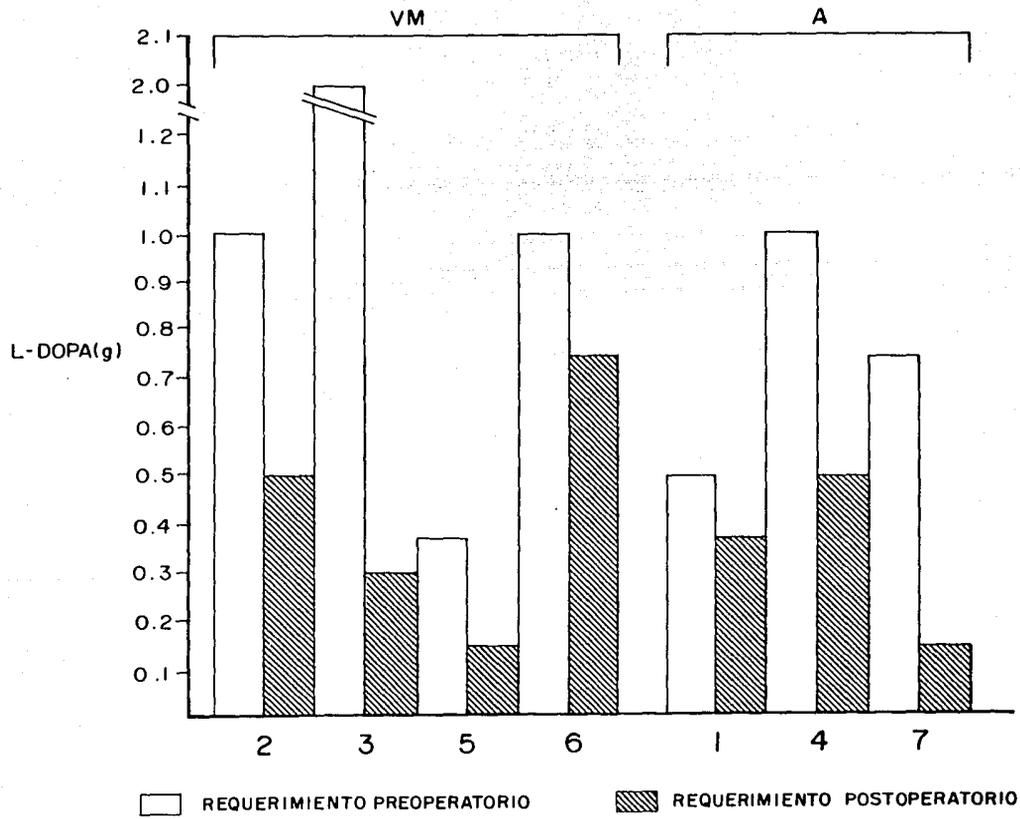


FIGURA 7

El resultado de la comparación de pacientes con EP operados (7 casos) y pacientes con EP no operados (7 casos) encontramos que la evolución de la enfermedad durante 12 meses alcanza un 25% de agravamiento en los pacientes no operados teniendo aún una respuesta moderada al medicamento.

Y los pacientes operados con injerto homólogo embrionario alcanzan una mejoría que va desde un 27% hasta un 60% partiendo de la basal de su preoperatorio. (Tabla B).

**PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON NO OPERADOS
Y PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON OPERADOS CON INJERTO HOMOLOGO.
Tiempo global de seguimiento 12 meses.**

**PACIENTES OPERADOS
EVALUACION EN UPRS**

**PACIENTES NO OPERADOS
EVALUACION EN UPRS**

No. de Caso	ON-OFF	% MEJORIA ON/OFF	No. de Caso	ON-OFF	% AGRAVAMIENTO ON/OFF
1	22/26	30/29	1	48/88	90/28
2	47/59	81/74	2	55/119	1/6
3	72/65	65/50	3	55/74	-5/4
4	25/81	25/54	4	70/97	24/28
5	62/80	62/59	5	73/111	32/16
6	15/73	49/67	6	89/137	15/4
7	11/31	22/33	7	93/118	28/20

(Promedio de Promedios)

(Promedio de Promedios)

DISCUSION

El uso exitoso de trasplantes embrionarios y fetales para restituir la función nigroestriatal en modelos animales de EP (13 a 27), nos llevó a intentar este procedimiento para tratar los síntomas y signos de la enfermedad, en dos casos el 12 de septiembre de 1987 (28) que fueron seguidos 9 meses después, por 5 casos más. La evaluación neurológica de los 7 casos ha demostrado que los homotrasplantes fetales con VM y A tienen efectividad diferente en el tratamiento de la EP. El impacto funcional de la mejoría en los diferentes signos de la EP en estos pacientes, fue diferente para cada caso, lo que podría estar relacionado con la heterogeneidad y severidad de su enfermedad, el tipo de injerto implantado y/o la técnica quirúrgica. Los resultados obtenidos en la calificación motora de la UPRS demostró, que los pacientes que recibieron VM, tienen una respuesta significativamente mejor en los signos primarios de degeneración del sistema nigroestriatal (reflejos posturales y bradicinecia) que aquellos trasplantados con A fetal.

La respuesta clínica a largo plazo de una población similar de pacientes con EP autotrasplantados con medula suprarrenal (41 a 42), demuestra que es diferente a la respuesta a ambos trasplantes fetales, particularmente si comparamos sus cursos evolutivos y efectos secundarios (efecto agudo, depresión de conciencia, alucinaciones, umbral aumentado al dolor, cambios neuropsicológicos, y requerimientos de L-dopa.

Existen muchos estudios experimentales que establecen diferentes mecanismos de acción de los injertos cerebrales (disponibilidad aumentada a la dopamina, actividad de factores tróficos, restablecimiento de circuitos nigroestriales, etc.) (14), sin embargo, no ha sido posible extrapolar por los hallazgos experimentales para explicar plenamente la mejoría neurológica observada en humanos. Por otra parte, aún existen muchos otros factores involucrados que son desconocidos, desafiando a los neurocientíficos.

Habiéndose iniciado los ensayos clínicos con los trasplantes fetales, se han abierto nuevas e importantes alternativas para el tratamiento de enfermedades neurológicas diferentes a la EP, como puede ser inferido de los múltiples estudios experimentales recientes (31 a 40).

Otros estudios clínicos están ayudando activamente a precisar los mecanismos comprometidos en la restauración de las funciones neuronales después de los trasplantes cerebrales. Hasta que no haya una experiencia suficiente en los centros especializados en investigación de trasplantes cerebrales (28,43,44,45), estas técnicas deben ser consideradas como un procedimiento experimental y deben ser realizadas únicamente por ellos.

CONCLUSIONES

- 1) El injerto homólogo de tejido ventral mesencefálico mejora los signos de la Enfermedad de Parkinson en forma sostenida hasta 19 meses.
- 2) El injerto homólogo de tejido adrenal mejora los signos de la Enfermedad de Parkinson en forma sostenida hasta 19 meses.
- 3) La calidad de vida de los pacientes con injerto homólogo ventral mesencefálico es mejor que la calidad de vida de los injertos con adrenal.
- 4) No es un tratamiento quirúrgico ideal para la Enfermedad de Parkinson por el uso de inmunosupresión.
- 5) Debemos continuar con el seguimiento clínico a largo plazo por más de 19 meses.
- 6) Debemos objetivizar las mediciones clínicas, con el uso de sistemas computarizados.

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Madrado I, Drucker R, Diaz V, Martinez-Maata J, Torres C, Becerril JJ. Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. N Engl J Med 1987;316:831-834.
- 2.- Madrado I, Drucker-Colin R, León V. Torres C. Adrenal medulla transplanted to caudate nucleus for treatment of Parkinson's disease: Report of 10 cases. Surg Forum 1987; 38:510-512.
- 3.- Madrado I., Drucker-Colin R., Leon V., Torres C., Ostrosky F., Franco R. Neurosurgical treatment of Parkinson's disease with adrenal medulla autograft into the caudate nucleus. Report of 30 cases. Abstr Annu Meet Amer Assoc Neurolog Surg. Toronto, Canada, 1988. p. 64
- 4.- Madrado I. Los trasplantes cerebrales y la enfermedad de Parkinson: actualidad y futuro. Rev. Esp. Neurol. 1988;3:216-219.
- 5.- Backlund E., Granberg P., Hamberger B., Knutsson E., Hartensson A., Sedvall G., Seiger A., Olson L. Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in parkinsonism. J. Neurosurg 1985;62:169-173.

- 6.- Lindvall O., Backlund E., Farde L., Sedvall G., Freedman R., Hoffer B., Nobin A., Seiger A., Olson L. Transplantation in Parkinson's disease: two cases of adrenal medullary grafts to the putamen. *Ann Neurol* 1987;22:457-468.
- 7.- Penn R., Goetz Ch., Tanner C., Klawans H., Shannon K., Comella C., Witt T. The adrenal medullary transplant operation for Parkinson's disease: Clinical observations in five patients. *Neurosurgery* 1988;22:999-1004.
- 8.- Lieberman A., Ransohoff J., Berczeller P. Brous P., Eng K., Goldstein M., Kaufman B., Koslow M. Neural and adrenal medullary transplants as a treatment for parkinson's disease and other neurodegenerative disorders. *Neuro View* 1988;4:1-15.
- 9.- Goetz Ch., Olanow W., Koller W., Penn R., Cahill D., Morantz R., Stebbins G., Tanner C., Klawans H., Shannon K., Comella C., Witt T., Cox C., Waxman M., Gauger L. Multicenter study of autologous adrenal medullary transplantation to the corpus striatum in patients with advanced parkinson's disease. *N. Engl J. Me4d* 1989;320:337-341.
- 10.- Kelly P., Ahlskog E., Heerden J., Carmichael S., Stoddard S., Bell G. Adrenal medullary autograft transplantation into the striatum of patients with Parkinson's disease. *Mayo Clin Proc.* 1989;64:282-290.

- 11.- Gimeno A., Riva C., Tratamientos actuales de la enfermedad de Parkinson: autoinjertos cerebrales. Rev Esp Neurol 1989;4:165-177.
- 12.- Allen G., Burns S., Tulipan N., Parker R. Adrenal medullary transplantation to the caudate nucleus in Parkinson's disease. Initial clinical results in 18 patients. Arch. Neurol. 1989;46:487-491.
- 13.- Sladek JR., Gash DM. Nerve-cell grafting in Parkinson's disease. J. Neurosurg. 1988;68:337-351
- 14.- Gash DM, Sladek JR. Transplantation into the mammalian CNS. Progress in Brain Research. Vol. 78 (ed) Elsevier Science Publishers RV Biomedical Division. Amsterdam 1988.
- 15.- Clarke DJ., Brundin E., Strecker RE., Hilsson OG., Bjorklund A., Lindvall O. Human dopamine neurons grafted in a rat model of Parkinson's disease: Ultrastructural evidence for synapse formation using tyrosine hydroxylase immunocytochemistry. Exp Brain Res 1988;731:115-126.
- 16.- Bjorklund A, Stenevi V.G. Neural grafting in the mammalian CNS. (Eds) Elsevier, Amsterdam New York-Oxford, 1985.
- 17.- Brundin P. Towards A. Transplantation therapy for Parkinson's disease. (Eds) Lund University. (Doctoral Thesis) Sweden 1988.

- 18.- Stromberg I., Chromaffin and nigral grafts. Experimental studies of possible treatment strategies in Parkinson's disease. Department of Histology and Neurobiology, Karolinska Institute. Stockholm, Sweden. (Doctoral Thesis) 1988.
- 19.- Decker WA., Moran TH., and Robinson RG. Receptor characteristics and recovery of function following kainic acid lesions and fetal transplants of the striatum. II Dopaminergic systems. Brain Res. 1988,474:39-47.
- 20.- Freed CR., Richards JB., Hutt C., Sabol KE., Ozturkg G., Krieke E., Reite ML. Relif of Parkinson syndrome in monkeys by brain graft of fetal substantia nigra. 18th Annu Natl Meet Amer Soc. Clin Invest. Washington DC. Clin Res 1988;36:548.
- 21.- Freed WJ. Functional brain tissue transplantation: reversal of lesion induced rotation by intraventricular substantia nigra and adrenal medulla grafts with a note on intracranial retinal grafts. Biol. Psychiatry 1983;18:1205-1267.
- 22.- Coates PW., Strahlendorf K. Fetal medial basal hypothalamic grafts in lateral brain ventricles of adult rats. Ultrastructure reveals connections with hosts and continuing maturation of the grafts. Neurology and Neurobiology. Vol. 6 Developing and regenerating vertebrate nervous systems. Proceedings of the 4th Tarbox Parkinson's disease symposium, Lubbock, TX, USA. Sept. 30-Oct 2 1982;pp 247-262.

- 23.- Bjorklund A., Brundin P., Isacson O. Neuronal replacement by intracerebral neural implants in animal models of neurodegenerative disease. In: Advances in Neurology. Vol. 47:Functional Recovery in Neurological Disease. (Ed) S.G. Waxman. Raven Press, New York. 1988;pp 455-492.
- 24.- Redmont DE., Sladek JR Jr., Roth RH., Collier TJ., Elsworth JD., Deutch AY., Haber S. Fetal neuronal grafts in monkeys given methylphenyltetrahydropyridine. Lancet 1986;1:1125-1127.
- 25.- Bjorklund A., and Stenevi U., Intracerebral neuronal implants: neuronal replacement and reconstruction of damaged circuitries. Ann Rev Neurosci 1984;7:279-308.
- 26.- Dunnett SB. Bjorklund A., Stenevi U., Iversen SD. Grafts of embryonic substantia nigra reinnervating the ventrolateral striatum ameliorate sensorio-motor impairments and akinesia in rats with 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. Brain Res 1981;229:209-217.
- 27.- Banckiewicz K., Porrino L., Palombo E., Plunkett R., Kopin I., Oldfield E. Local cerebral glucose utilization in MPTP parkinsonian monkeys correlates with functional recovery after fetal mesencephalic and adrenal medulla allografts. Abstr Annu Meet Amer Assoc Neuro Surg. Toronto, Ontario. 1988. p.317.

- 28.- Madrazo I., Leon V., Torres C., Aguilera MC., Varela G., Alvarez F., Fraga A., Drucker-Colin R., Ostrosky F., Skurovich M., Franco R. Transplantation of fetal substantia nigra and adrenal medulla to caudate nucleus in two patients with Parkinson's disease. N Engl J Med 1988;318:51.
- 29.- Madrazo I., Drucker-Colin R., Madrazo M., Zarate A., Leon V., Torres C., Reyes P. Técnica quirúrgica del injerto autólogo de médula suprarrenal al núcleo caudado para tratamiento de la Enfermedad de Parkinson. Gac Med (Mex)1988;124:365-369.
- 30.- Koller WC., Handbook of Parkinson's disease. (Ed) Marcel Dekker, New York. 1987.
- 31.- Peschanski M. Le cerveau repare? Librairie Plon Scientifique 1989.
- 32.- Benfey M., Aguayo AJ. Extensive elongation of axon from rat brain into peripheral nerve grafts. Nature 1982;898:150-168.
- 33.- Bjorklund A., Segal M., Stenevi M. Functional reinnervation of rat hippocampus by locus ceruleus implants. Brain Res 1979;170:409-426.
- 34.- Gage F., Bjorklund A., Enhanced graft survival in the hippocampus following selective denervation. Neuroscience. 1983;17:80-98.

- 35.- Gage F., Bjorklund A., Cholinergic septal grafts into the hippocampal formation improve spatial learning and memory in aged rats by an atropine sensitive mechanism. *J. Neuroscience*. 1986;6:2837-2847.
- 36.- Gage F., Bjorklund A. Neural grafting in the aged rat brain. *Annu Review of Physiol*. 1986;48:447-459.
- 37.- Gardette R., Alvarado Hallart R., Crepel F., Sotelo G. Electrophysiological demonstration of synaptic integration of transplanted Purkinje cells into the cerebellum of the adult. Purkinje cell degeneration mutant mouse. *Neuroscience*. 1988;24:777-789.
- 38.- Isacson O., Dawbarn D., Brundin P., et al Neural grafting in a rat model of Huntington's disease: striosomal-like organization of striatal grafts as revealed by acetylcholinesterase histochemistry immunocytochemistry and receptor autoradiography. *Neuroscience*. 1987;22:481-497.
- 39.- Sotelo C., Alvarado-Mallart R., Growth and differentiation of cerebellar suspensions transplanted into the adult cerebellum of mice with hereditary ataxia. *Proc. Nat Acad Sci USA*. 1986;83:1135-1139.

40.- Sotelo C., Alvarado-Mallart R., Reconstruction of defective cerebellar circuitry in adult Purkinje cell degeneration mutant mice by Purkinje cell replacement th transplantation of solid embryonic implants. Neuroscience. 1987;20:1-22.

41.- Ostrosky-Solis F., Quintanar L., Madrazo I., Drucker-Colin R., Franco-Bourland R., Leon-Meza V. Neuropsychological effects of brain autograft of adrenal medullary tissue fo the treatment of Parkinson's disease. Neurology 1988;38:1442-1450.

42.- Ostrosky-Solis F., Meneses S., Ruiz S., Rodriguez J., Madrazo I., Drucker-Colin R., Cognitive and electrophysiological effects of intracerebral grafts of autoadrenal medullary and human fetal tissue in patients with Parkinson's disease. Abstr. Int. Symp on Information Transduction and Processing in Biological Systems from cell to whole body. Kagawa, Kosei. Nengin, Kaikan; Japan 1989,p.78

43.- Hitchcock ER., Clough G., Hughes R., Kenny B., Embryos and Parkinson's disease. Lancet 1988;1274.

44.- Lindvall O., Gustavi B., Astedt B., Lindholm T., Behnerona S., Brundin P., Widner H., Bjorklund A., Leenders KL., Frackowiak P., Rothwell JC., Marsden CD., Johnels B., Steg G., Freddman P., Hoffer BJ., Seiger A., Stromberg I., Bygdeman M. and Olson L., Fetal dopamine-rich mesencephalic grafts in Parkinson's disease. *Lancet* 1988;24:31-1483.

45.- Molina H., Quiñones R., Suarez O., Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the caudate nucleus in a patient with Parkinson's disease. *Ital J. Neurol Sci* 1987;5(Suppl 7):64.